

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-530229

(P2016-530229A)

(43) 公表日 平成28年9月29日(2016.9.29)

(51) Int.Cl.		F I			テーマコード (参考)
AO 1 N 25/00	(2006.01)	AO 1 N 25/00	1 O 1		2 B 1 O 4
AO 1 N 25/08	(2006.01)	AO 1 N 25/08			2 B 1 2 1
AO 1 N 43/64	(2006.01)	AO 1 N 43/64	1 O 5		4 D O 5 O
AO 1 P 3/00	(2006.01)	AO 1 P 3/00			4 H O 1 1
AO 1 N 59/08	(2006.01)	AO 1 N 59/08	A		
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁) 最終頁に続く					

(21) 出願番号	特願2016-522964 (P2016-522964)	(71) 出願人	515358805
(86) (22) 出願日	平成26年7月3日 (2014.7.3)		シャケッド マイクロウビアル ソリュー
(85) 翻訳文提出日	平成27年12月24日 (2015.12.24)		ションズ リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/IL2014/050602		イスラエル国, 6 9 0 5 2 3 3 テル ア
(87) 国際公開番号	W02015/001563		ビブ, ピー. オー. ボックス 3 9 9 9 5
(87) 国際公開日	平成27年1月8日 (2015.1.8)		, 4 3 プロデツキー ストリート
(31) 優先権主張番号	227343	(74) 代理人	100114775
(32) 優先日	平成25年7月4日 (2013.7.4)		弁理士 高岡 亮一
(33) 優先権主張国	イスラエル (IL)	(74) 代理人	100121511
			弁理士 小田 直
		(74) 代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 水面生息有害生物を抑制する方法

(57) 【要約】

本発明は、水生系において水面生息有害生物、特にシアノバクテリアおよび有害藻類ブルーム (H A B) を抑制する方法を開示し、該方法は、水消毒剤、好ましくは酸化化合物、および浮遊剤を含む浮遊性組成物を水生系の水面に拡散することを含む。本発明はさらに、組成物およびそれらの調製方法ならびに用途に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

水生系において水面生息光合成微生物ブルームを抑制する方法であって、

a．少なくとも 1 種の光合成微生物阻害剤と、浮遊剤とを含む浮遊性組成物を生成することと；

b．前記水生系において一定期間内に前記光合成微生物の少なくとも 50% の減少を誘発する条件下で、前記浮遊性組成物を前記水生系の表面に使用することであって、前記少なくとも 1 種の光合成微生物阻害剤が、前記期間後に前記水生系において飲料水で許容される濃度未満の濃度であり、および前記少なくとも 1 種の光合成微生物阻害剤が前記水生系から実質的に分解するよう適合されており、その結果前記期間後に、その活性状態で検出され得ないことを特徴とする、使用することと、
を含む、方法。

10

【請求項 2】

前記少なくとも 1 種の光合成微生物阻害剤が酸化性水消毒剤を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記水消毒剤が塩素放出剤、臭素放出剤、過酸化水素系化合物、銅塩、アルミニウム塩、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記塩素放出剤が次亜塩素酸カルシウムおよびジクロロイソシアヌル酸ナトリウム (N a D C C) から選択される、請求項 3 に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記浮遊剤がセルロース誘導体、植物バイオマス、飽和炭化水素、樹脂状物質、フォーム、ワックスおよび天然ラテックスまたは合成ラテックスからなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記浮遊剤が木粉である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記浮遊剤がパラフィンである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記浮遊剤がロジンである、請求項 5 に記載の方法。

30

【請求項 9】

前記浮遊剤が押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 10】

前記浮遊剤がシリコンフォームである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 11】

前記光合成微生物阻害剤の濃度が、前記組成物の約 10 重量%、もしくは約 20 重量%、もしくは約 30 重量%、もしくは約 40 重量%、もしくは約 50 重量%、もしくはそれを超える、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 12】

前記組成物が粒子、顆粒、フレーク、粉末、ペレット、丸剤、溶液またはその組み合わせの形態である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記少なくとも 1 種の光合成微生物がシアノバクテリア、藻類、プラクトンおよびその組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記使用のステップが前記水生系における前記ブルームの検出に続く、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

50

前記使用のステップが季節的ブルーム中に行われる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記期間が 3 時間である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記期間が少なくとも 3 日間であり、前記少なくとも 50 % の減少が少なくとも 99 % の減少である、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記光合成微生物がシアノバクテリアであり、前記組成物が前記阻害剤の約 0.005 g / m² と約 50 g / m² の間の濃度、または約 0.5 ppm と約 50 ppm の間の濃度で使用される、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 19】

前記使用のステップが数時間間隔後に繰り返される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記使用のステップの結果、各使用から 0.5 時間後、1 時間後、2 時間後、3 時間後、24 時間後またはそれよりも後に水中で測定した場合に前記阻害剤が微量となる、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

活性化化合物の前記微量とは、各使用から 24 時間またはそれよりも後に測定した場合に 3 ppm 以下である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 22】

20

前記処理ステップが 1 日 3 回、1 日 2 回もしくは 1 日 1 回、または週 1 回、または 2 週間に 1 回、または 3 週間に 1 回、または 1 ヶ月に 1 回行われるか、またはそれよりも長い間隔で行われる、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 23】

前記使用のステップが、1 日間、2 日間、3 日間、4 日間、5 日間またはそれ以上の期間、1 日 1 回または 1 日 2 回行われる、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

第 2 の阻害剤を前記水面に使用することをさらに含む、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記使用のステップが手動散布器もしくは機械的散布器によって、またはボートもしくは飛行機から液剤もしくはフォームを拡散することによって行われる、請求項 1 の記載の方法。

30

【請求項 26】

水生系において水面生息光合成微生物のブルームを抑制するのに用いる拡散性浮遊性組成物であって、
光合成微生物阻害剤と、浮遊剤とを含み、前記ブルームを酸化するために、前記組成物が前記水面に前記阻害剤を徐々に放出するよう適合されており、および前記少なくとも 1 種の光合成微生物阻害剤が、前記期間後に前記水生系において、飲料水で許容される濃度未満の濃度であることを特徴とする組成物。

【請求項 27】

40

前記光合成微生物阻害剤が酸化性水消毒剤である、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】

前記少なくとも 1 種の水消毒剤が塩素放出剤、臭素放出剤、過酸化水素系化合物、銅塩、アルミニウム塩、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記水消毒剤が次亜塩素酸カルシウムまたは NaDCC である、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記浮遊剤がセルロース誘導体、植物バイオマス、飽和炭化水素、樹脂状物質、フォー

50

ム、ワックスおよび天然ラテックスまたは合成ラテックスからなる群から選択される、請求項 2 7 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 1】

前記浮遊剤が木粉である、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記浮遊剤がパラフィンである、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記浮遊剤がロジンである、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記浮遊剤が押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームである、請求項 3 0 に記載の組成物。 10

【請求項 3 5】

前記浮遊剤がシリコンフォームである、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記浮遊剤がワックスである、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記組成物が粒子、顆粒、フレーク、粉末、ペレット、丸剤、または溶液の形態である、請求項 2 6 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記光合成有害生物の増殖がシアノバクテリア増殖、藻類増殖、微生物増殖、およびプランクトン増殖からなる群から選択される、請求項 2 6 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。 20

【請求項 3 9】

前記組成物が前記水生系における有害なブルームの検出に続く投与に好適である、請求項 2 6 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 4 0】

前記有害生物がシアノバクテリアであり、および前記少なくとも 1 種の水消毒剤が活性薬剤の約 0.005 g/m^2 と約 50 g/m^2 の間の濃度、または約 0.5 ppm と約 50 ppm の間の濃度で投与される、請求項 2 8 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記少なくとも 1 種の水消毒剤の量が全組成物の約 10 重量%、もしくは約 20 重量%、もしくは約 30 重量%、もしくは約 40 重量%、もしくは約 50 重量%、もしくはそれを超える、請求項 2 8 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。 30

【請求項 4 2】

前記水生系への前記組成物の投与の結果、各処理から 0.5 時間後、1 時間後、2 時間後、3 時間後、24 時間後またはそれよりも後に水中で測定した場合に活性化合物が微量となる、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

活性化合物の前記微量とは、各処理から 24 時間後またはそれよりも後に測定した場合に 3 ppm を超えない、請求項 4 2 に記載の組成物。 40

【請求項 4 4】

前記組成物が前記水生系への 1 回、2 回またはそれよりも多くの投与に適合されている、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 5】

前記組成物が 1 日 3 回、1 日 2 回もしくは 1 日 1 回、または週 1 回、または 2 週間に 1 回、または 3 週間に 1 回、または 1 ヶ月に 1 回投与される投与、またはそれよりも長い間隔で投与される投与、に好適である、請求項 4 3 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記組成物が 1 日間、2 日間、3 日間、4 日間、5 日間またはそれを超える期間、1 日 1 回または 1 日 2 回投与される投与に適合されている、請求項 4 3 に記載の組成物。 50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、水殺菌の分野にある。

先行技術

【0002】

現在開示される主題の背景技術として関連すると考えられる参考文献を以下に収載する：

- Berg, K. A., Lyra, C, Sivonen, K., Paulin, L. Suomalainen, S., Tuomi, P., および Rapala, J. (2008) High diversity of cultivable heterotrophic bacteria in association with cyanobacterial water blooms. ISMEJ 3:314-325. 10
- Broza, M. および Halpern, M. (2001) Chironomid egg/m2 assesses and *Vibrio cholerae*. Nature 412:40.
- Deng L. および Hayes P. K. (2008) Evidence for cyanophages active against bloom-forming fresh water cyanobacteria. Fresh Water Biology 53:1240-1252. 20
- Di Domenico, D., Ruggeri, L., および Trentini, M. (2006) The use of sodium hypochlorite as ovicide against *Aedes albopictus*. Journal of the American Mosquito Control Association 22:346-348.
- Drabkova, M., Marsalek, B., および Admiraal, W. (2007) Photodynamic therapy against cyanobacteria. Environ Toxicol 22:112-115.
- Eiler, A. および Bertilsson, S. (2004) Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes. Environmental Microbiology 6:1228-1243. 30
- Falconer J. R., Beresford, A. M., および Runnegar, M. T. (1983) Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. The Medical Journal of Australia 1:511.
- Gardes, A., Iversen, M. H., Grossart, H. P., Passow, U., および Ulrich, M. S. (2010) Diatom-associated bacteria are required for aggregation of *Thalassiosira weissflogii*. ISMEJ Hatchett, S. P. (1946) Chlorine as a possible ovicide for *Aedes aegypti* eggs. Public Health Reports (1896-1970) 61:683-685. 40
- Hullebusch, E. V., Deluchat, V., Chazal, P. M., および Baudu, M. (2002) Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: Part II. Case of copper sulfate. Environmental Pol 50

lution 120:627-634。

Iredale, R. S., McDonald, A. T., および Adams, D. G. (2012) A series of experiments aimed at clarifying the mode of action of barley straw in cyanobacterial growth control. *Water Research* 46:6095-6103。

Jacups, S. P., Ball, T. S., Paton, C. J., Johnson, P. H., および Ritchie, S. A. (2013) Operational use of household bleach to 'crash and release' *Aedes aegypti* prior to Wol/tec/i/a-infected mosquito release. *Journal of Medical Entomology* 50:344-351。

10

Jones, B. E., Grant, W. D., Duckworth, A. W., および Owensson, G. G. (1998) Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles* 2: 191-200。

Kaplan, A., Harel, M., Kaplan-Levy, R. N., Hadas, O., Sukenik, A., および Dittmann, E. (2012) The languages spoken in the water body (or the biological role of cyanobacterial toxins). *Frontiers in Microbiology* 3。

20

Kolmakov, V. I. (2006) Methods for prevention of mass development of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kutz emend. Elenk. in aquatic systems. *Microbiology* 75:115-118。

Matthijs H. C. P., Visser P. M., Reeze B., Meuse J., Slot P. C., Wijn G., Talens R., Huisman J. (2012) Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Research* 46:1460-1472。

30

Sigee, D. (2005) Biodiversity and Dynamic Interactions of Microorganisms in the Aquatic Environment. In *Freshwater Microbiology*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, pp. 328-338。

Swaen, G/M2., van Vliet, C, Slangen J J., and Sturmans, F. (1992) Cancer mortality among licensed herbicide applicators. *Scandinavian journal of work, environment & health* 18:201-204。

40

Xiao, X., Huang, H., Ge, Z., Rounge, T. B., Shi, J., Xu, X. (2014) A pair of chiral flavonolignans as novel anti-cyanobacterial allelochemicals derived from barley straw (*Hordeum vulgare*): characterization and comparison of their anti-cyanobacterial activities. *Environmental Microbiology* 16:1238-1251。

【0003】

50

本明細書の上記参考文献の承認は、これらが現在開示される主題の特許性に多少なりとも関連することを意味すると推測されてはならない。

【背景技術】

【0004】

光合成微生物は、池、湖、下水貯水池および海洋などの水域で季節的ブルームを形成する傾向がある。これらのブルームは、最高 $10^6 \sim 10^7$ 細胞/mLまで達し得る細胞数の大幅な増加および $50 \mu\text{g/L}$ を超えるクロロフィルaによって定義される。水が濃緑色、赤色または茶色に変わると、この現象は肉眼にも明白になり得る。季節的ブルームは主に、光合成によって光エネルギーを変換することができる微生物からなっているが、コミュニティ全体を維持する種々の多くの他の微生物とも共存する（Gardesら、2010）。10
生物的条件および非生物的条件により場合によっては、一部の種、すなわち、シアノバクテリアの別名でよく知られている藍藻類は、そのガス胞を用いて水面に自身の位置を定めて、バイオフィーム（スカムまたはマットとも言われる）を形成する。シアノバクテリアは、多様な生理学的耐性および広い生態学的耐性を備えている多種多様な酸素発生型の光合成原核生物であり、このことはそれらが広範囲な環境にわたる競争に勝つ一因となっている。40年を超える間に、これらの微生物の存在量は、湖、貯水池、河川および汽水環境において世界的に増大した。シアノバクテリアのブルームはカビ臭を発生し、より深刻には毒素を産生する。シアノバクテリア有害藻類ブルーム（CHAB）は、富栄養化問題ならびに膨大な代謝産物の分泌を表し、その一部は真核生物にとって最も有毒である（Kaplanら、2012）ので、水管理公社、環境機関および健康機関にとって20
は警戒状況を意味する。

【0005】

現在、藻類ブルームを処理するためのいくつかの手段、例えば硫酸アルミニウム（ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ）と硫酸銅による連続処理（Hullebuschら、2002）、過酸化2
物（Drabkovaら、2007）、または除草剤（すなわちジウロン、シマジン、アトラジン）が用いられている。しかし、これらの処理は、環境への深刻な影響（Falconerら、1983；Kolmakov、2006；Swanenら、1992）に関連し、かつ費用もかかる（ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ による処理は1平方km当たりUS\$750,000～US\$1,000,000と推定される）。30

【0006】

したがって、利用できる処理は主に、過量投与の生態学的側面が重大でない人工的な小さな池、プールおよび小さくて浅い湖沼で用いられている。これらの処理は広い水域には向いておらず、また毒性および生態学的影響、比較的高いコスト、ならびに均一分散のための大量投入量の要件の理由から反復使用には適していない。30

【0007】

CHABを防止するための別の手段は、水界生態系にオオムギまたは稲わらを投げ入れることであるが、この効果は着実でなかった（Iredaleら、2012）。最近発見されたそれらの活性化化合物（フラボノリグナンサルコリンAおよびB）（Xiaoら、2014）は、ミクロキスティス（*Microcystis aeruginosa*）に対するそれらの溶解効力を示した。しかし、これらの活性化化合物は市販されておらず、必要な環境認可および規制認可がまだ取得されていない。40

【0008】

シアノバクテリアを特異的に攻撃する溶菌ウイルスである藻類ウイルスが、仮説的に示唆されたが、これまで実際に特定または使用されたことはなかった（DengとHayes40
ss、2008）。

【0009】

Mattijisら（2012）は、分散装置を使用して、約 $60 \mu\text{M}$ の液体 H_2O_2 で0.12平方kmの浅い湖の全体積を処理した。この手法は、高いコストの装置のため高価であり、多大な時間を必要とし、かつ液体過酸化水素の使用のため危険だった。また、処理から2日後に湖水中でこの化学薬品が記録された。さらに、広範囲にわたる面積で50

、および高頻度で H_2O_2 に頻繁に曝露されると、長期的にはこの化合物に対するシアノバクテリア耐性が誘発されることがある。

【0010】

ユスリカ（双翅目；ユスリカ科；ユスリカ属）は、世界中の淡水で最も豊富な昆虫種である。ユスリカは、4つの生命段階で完全変態を行う；3段階は水生（卵、幼生、蛹）であり、最後は陸生の成虫期である。雌は、厚いゼリー状基質に埋め込まれた卵塊（400～1,000の卵からなる）を水域の縁に産む。

【0011】

ユスリカ（別名非ヌカカ）は、生態学および経済的に深刻な害を引き起こす。市街地またはその近辺で水生生息地から発生する成虫のユスリカの大群は、観光および不動産価値に影響を及ぼし、ならびにヒトアレルギー反応に関連する。幼生として、ユスリカは水道管を詰まらせて、家庭使用者の給水システムに達することもある（「赤虫」）。さらに、ユスリカのゼリー状卵塊は、コレラ菌の自然の病原巣としての役割を果たすことが報告されている（BrozaとHalpern（2001））。現在は、コレラを予防する努力は、公衆衛生対策の組み合わせに依存する。ユスリカの幼生に対して使用される農薬は、連用すると、ユスリカが適応し、耐性を持つようになることがわかったので、成功度が限定されている。さらに、農薬には広範な特異性があり、ヒトを含む環境を害することがある。

10

【発明の概要】

20

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

本発明は、種々の漂白剤の浮遊性製剤が処理水中のシアノバクテリア集団を減少させることに効果的であるという意外な発見に基づく。さらに、この浮遊性製剤は海洋性昆虫の殺卵剤としての効力を示しており、卵から孵化する健康な幼生の数を激減させた。

【0013】

したがって、本発明は第1のその態様において、水生系で水面生息有害生物を抑制する方法を提供し、この方法は、

- a．活性薬剤放出化合物である少なくとも1種の水消毒剤と、少なくとも1種の浮遊剤とを含む組成物を得ることと、
- b．水生系において上記の有害生物の増殖の減少、阻害または除去を生じる条件下でこの組成物を用いて水生系を処理することを含む。

30

【0014】

一実施形態において、上記の少なくとも1種の水消毒剤は、酸化性水消毒剤ある。

【0015】

一実施形態において、上記の少なくとも1種の水消毒剤は、塩素放出剤、臭素放出剤、過酸化水素系化合物、銅塩、アルミニウム塩、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【0016】

具体的な実施形態において、水消毒剤は、次亜塩素酸カルシウム（ $Ca(OCl)_2$ ）またはジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（ $NaDCC$ ）である。

40

【0017】

一実施形態において、浮遊剤は、セルロース誘導体、植物バイオマス、飽和炭化水素、樹脂状物質、フォーム、および天然ラテックスまたは合成ラテックスからなる群から選択される。

【0018】

具体的な実施形態において、浮遊剤は木粉である。

【0019】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はパラフィンである。

【0020】

50

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はロジンである。

【0021】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤は押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームである。

【0022】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はシリコンフォームである。

【0023】

特定の実施形態において、少なくとも1種の水消毒剤の量は、組成物の約10重量(w/w) %、もしくは約20重量 %、もしくは約30重量 %、もしくは約40重量 %、もしくは約50重量 %もしくはそれを超える。

10

【0024】

特定の実施形態において、組成物は粒子、顆粒、フレーク、粉末、ペレット、丸剤、溶液またはそれらの組み合わせの形態である。

【0025】

一実施形態において、上記の有害生物の増殖は、シアノバクテリア増殖、藻類増殖、微生物増殖、プランクトン増殖、および水面生息昆虫からなる群から選択される。

【0026】

一実施形態において、処理ステップは、水生系における有害な藻類ブルームの検出に続く。

【0027】

20

具体的な実施形態において、処理することは、ブルーム発現初期に行われる。

【0028】

別の実施形態において、処理ステップは、上記の有害生物の増殖が検出されると行われる。

【0029】

具体的な実施形態において、上記の有害生物はシアノバクテリアであり、上記の水消毒剤は、約0.005 g/m²と約50 g/m²の間の濃度、または活性薬剤の約0.5 ppmと約50 ppmの間の濃度で投与される。

【0030】

一実施形態において、上記の処理は、各処理の0.5時間後、1時間後、2時間後、3時間後、24時間後またはそれより後に、水中で測定される微量の活性化合物をもたらす。

30

【0031】

具体的な実施形態において、上記の微量の活性化合物は、各処理の24時間以上後に測定されると、3 ppmを超えない。

【0032】

別の実施形態において、上記の有害生物は水面生息昆虫であり、上記の消毒剤は、約50 ppmと約1000 ppmの間の濃度で投与される。

【0033】

具体的な実施形態において、上記の水面生息昆虫は、イエカ属(Culex sp.)、ヤブカ属(Aedes sp.)、ハマダラカ属(Anopheles sp.)またはユスリカ属(Chironomidae sp.)である。

40

【0034】

特定の実施形態において、上記の消毒剤は、殺卵剤として作用する。

【0035】

一実施形態において、上記の処理ステップは、水消毒剤の単回投与、2回投与または複数回投与を含む。

【0036】

特定の実施形態において、処理ステップは、1日3回、または1日2回、または1日1回、または週1回、または2週間に1回、または3週間に1回、または1ヵ月に1回また

50

はそれより長い間隔で行われる。

【0037】

具体的な実施形態において、処理ステップは、1日間、2日間、3日間、4日間、5日間またはそれを超える期間の間に1日1回または1日2回行われる。

【0038】

一実施形態において、2回投与または複数回投与は、同じ消毒剤または異なる消毒剤で行われる。

【0039】

特定の実施形態において、この処理は、手動散布器もしくは機械的散布器によって、または例えばボートもしくは飛行機から液剤を拡散することによって行われる。

10

【0040】

別の態様において、本発明は水生系における水面生息有害生物の抑制に用いられる組成物を提供し、この組成物は、活性薬剤放出化合物である少なくとも1種の水消毒剤と、少なくとも1種の浮遊剤とを含む。

【0041】

一実施形態において、上記の少なくとも1種の水消毒剤は、酸化性水消毒剤である。

【0042】

一実施形態において、少なくとも1種の水消毒剤は、塩素放出剤、臭素放出剤、過酸化物系化合物、銅塩、アルミニウム塩、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

20

【0043】

具体的な実施形態において、水消毒剤は、次亜塩素酸カルシウムまたはNaDCCである。

【0044】

一実施形態において、浮遊剤は、セルロース誘導体、植物バイオマス、飽和炭化水素、樹脂状物質、フォーム、および天然ラテックスまたは合成ラテックスからなる群から選択される。

【0045】

具体的な実施形態において、浮遊剤は木粉である。

【0046】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はパラフィンである。

30

【0047】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はロジンである。

【0048】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤は押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームである。

【0049】

別の具体的な実施形態において、浮遊剤はシリコンフォームである。

【0050】

特定の実施形態において、少なくとも1種の水消毒剤の量は、全組成物の約10重量%、もしくは約20重量%、もしくは約30重量%、もしくは約40重量%、もしくは約50重量%以上である。

40

【0051】

特定の実施形態において、組成物は粒子、顆粒、フレーク、粉末、ペレット、丸剤または溶液の形態である。

【0052】

一実施形態において、上記の有害生物の増殖は、シアノバクテリア増殖、藻類増殖、微生物増殖、プランクトン増殖、および水面生息昆虫からなる群から選択される。

【0053】

一実施形態において、組成物は水生系における有害な藻類ブルームの検出に続いて投与

50

される。

【0054】

具体的な実施形態において、組成物はブルーム発現初期に投与される。

【0055】

別の実施形態において、処理することは、上記の有害生物の増殖が検出されると行われる。

【0056】

具体的な実施形態において、上記の有害生物はシアノバクテリアであり、上記の少なくとも1種の水消毒剤は、約0.005 g/m²と約50 g/m²の間の濃度、または活性薬剤の約0.5 ppmと約50 ppmの間の濃度で投与される。

10

【0057】

一実施形態において、水生系への上記の組成物の投与は、各処理の0.5時間後、1時間後、2時間後、3時間後またはそれより後に、水中で測定される微量の活性化合物をもたらす。

【0058】

具体的な実施形態において、上記の微量の活性化合物は、各処理から24時間以上後に測定されると、3 ppmを超えない。

【0059】

別の実施形態において、上記の有害生物は水面生息昆虫であり、上記の少なくとも1種の水消毒剤は、約50 ppmと約1000 ppmの間の濃度で投与される。

20

【0060】

具体的な実施形態において、上記の水面生息昆虫は、イエカ属(*Culex* sp.)、ハマダラカ属(*Anopheles* sp.)またはユスリカ属(*Chironomidae* sp.)である。

【0061】

特定の実施形態において、上記の消毒剤は、殺卵剤として作用する。

【0062】

一実施形態において、上記の組成物は、水生系に1回、2回またはそれより多く投与される。

【0063】

30

特定の実施形態において、組成物は、1日3回、または1日2回、または1日1回、または週1回、または2週間に1回、または3週間に1回、または1ヵ月に1回またはそれより長い間隔で投与される。

【0064】

具体的な実施形態において、組成物は1日間、2日間、3日間、4日間、5日間またはそれを超える期間の間に1日1回または1日2回投与される。

【図面の簡単な説明】

【0065】

本明細書に開示される主題をより良く理解するために、かつそれを実際に行う方法方法を例示するために、非限定の例としてのみ、添付の図面を参照し、諸実施形態をここで記述する。

40

【0066】

【図1】CHABで満たされたガラス瓶の画像である。(A)処理前、(B)次亜塩素酸カルシウムの浮遊性製剤で一晩処理した後。

【図2】CHABで満たし種々の濃度の次亜塩素酸カルシウムで処理したガラス瓶の画像である。(A)処理なし、(B)0.5 g/平方mのCa(OCl)₂で処理、(C)1.0 g/平方mのCa(OCl)₂で処理、(D)5.0 g/平方mのCa(OCl)₂で処理。

【図3A】時間(日数)を関数として、水面でのクロロフィルaの濃度(μg/L)を表すグラフである。

50

【図 3 B】時間（日数）を関数として、水深 50 cm でのクロロフィル a の濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）を表すグラフである。

【図 3 C】時間（日数）を関数として、pH 測定値を表すグラフである。

【図 3 D】時間（日数）を関数として、水面での溶存酸素濃度（ $\text{mg O}_2/\text{L}$ ）を表すグラフである。

【図 4】代表的なエンクロージャーの画像である。（A）処理なし（B）3 カプセルで処理（C）6 カプセルで処理および（D）9 カプセルで処理。

【図 5】3、6 もしくは 9 カプセルで処理した、または無処理（0）のエンクロージャー中のシアノバクテリアの濃度（細胞/mL）を、2 つの時点（12:00 と 15:00）で示すグラフである。

10

【図 6】エンクロージャーの水面の画像である。（A）処理なし、（B）6 カプセルで処理。

【図 7】2 カプセル投与量で処理した後のエンクロージャーの表面から採取した水を含むバイアルの画像を示す。左のバイアル - 無処理、続くバイアルは、左から右へそれぞれ、3、6 および 9 カプセルで処理。

【発明を実施するための形態】

【0067】

本発明は、水面生息有害生物の抑制に好適な、漂白化合物（または酸化剤）を含む浮遊性組成物に関する。

【0068】

20

特に、本発明は、何よりもまずシアノバクテリア有害藻類ブルーム（CHAB）を含む水面に生息する有害生物の抑制に好適な、次亜塩素酸カルシウム、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（NaDCC）または過炭酸ナトリウム（もしくは接触すると作用する他の殺藻剤）を含む浮遊拡散性製剤、ならびに同製剤を調製する方法に関する。

【0069】

本発明は、次亜塩素酸カルシウムまたは NaDCC の浮遊性製剤が、飲料水中の許容される塩素の濃度よりもはるかに低い「総 Cl 濃度」（水柱内の総 Cl 濃度）で、シアノバクテリアの塊状マットに対して優れた効力を示したという意外な発見に一部、基づいている。

【0070】

30

次亜塩素酸塩および他の酸化剤は、飲料水供給システムにおいて浄化剤として何十年間、使用されてきた。同様に、水泳プールおよび娯楽プールなどの小さい水域では、高濃度の次亜塩素酸塩で系統的に処理することによって、藻類とバクテリアを浄化することが多い。この解決方法は、必要とされる大量の化合物に関連する高い費用、全生態系の動物相と植物相に対する漂白剤の非特異的な致死効果のため、湖または開放水域バイユーなどの大きな集水地域には明らかに適していない。

【0071】

本発明は、接触すると作用する水消毒剤を用いることの有害作用が水柱中の化合物の実際の濃度を下げることによって改善され得る、という認識に基づいている。これは、拡散性の浮遊性製剤からの化合物の徐放により、水柱中の消毒剤（例えば次亜塩素酸塩または過酸化水素）の勾配を維持することによって達成される。消毒剤の濃度勾配は水中での化合物の拡散によって生成され、および任意選択で水中での有機物質（植物プランクトンを含む）との急速な相互作用によっても生成される。シアノバクテリアの塊がマットとして位置しているのは水面であり、したがって水面で本発明の浮遊性組成物を使用することによって潜在的な藻類の有毒なブルームの大発生を阻止できる。

40

【0072】

この新規の処理の概念は、比較的少量の酸化化合物が、植物プランクトンおよび特にシアノバクテリア集団による圧倒的な反応を引き起こすには十分であるという意外な発見に由来する。この効果は、酸化化合物の浮遊性製剤を用いることによって達成できる。特定の頻度（最初のシアノバクテリア含有量と組成物、ならびに水中の有機物質の総合荷重に

50

よる)で繰り返すと、シアノバクテリアの細胞数は減少し始め、最終的にHAB集団の崩壊をもたらす、および任意に非有害生物との競合による水柱のコロニー形成をもたらす。この方法は、酸化剤の分散のインプット要件が極めて低い簡単な処理を可能にし、かつ大量の分散方法(例えば、ポートと農薬散布飛行機)の効率的な利用を容易にする。さらに、酸化剤の投与量が低いため、および処理水中の大量の有機物負荷量のため、水中の有効酸化剤の総濃度は、規制機関によって許可される処理した飲料水中での濃度(1~3 ppmの有効塩素)よりもかなり低く、有害な環境影響がわずかである安全で簡単な処理をもたらす。

【0073】

理論に拘束されることを望むものではないが、次亜塩素酸塩は水柱中で、水面に豊富な有機物質と反応し、したがって水柱中に蓄積しない。塩素のあらゆる分子は水生系に存在する有機物質と反応し、したがって有効なまたは全体の塩素濃度は、たちまちほとんど検出不能になる。

【0074】

本発明の方法は、硫酸アルミニウムを使用する現在の処理と比較して、簡単かつ高価でない解決策を提供する。本発明により提供される解決策は、現在の $Al_2(SO_4)_3$ 処理よりも約15~20倍安価で、ずっと効果的であり、ならびに環境に対する毒性がずっと少ない。

【0075】

処理の結果、藻類およびシアノバクテリアの数は大幅に減少し得る。結果として、季節の終わりにおけるシアノバクテリア細胞の溶解と一般的に関連している、毒素の放出は、回避されるかまたはかなり減少させられ、したがって水質へのCHABの有害影響を回避しながら、一方で水生生物への広範な害を回避する。

【0076】

したがって、本発明は、水生系における水面生息有害生物を抑制する方法を提供し、この方法は、

(a) 活性薬剤放出化合物である少なくとも1種の水消毒剤と、少なくとも1種の浮遊剤とを含む組成物を得ることと、

(b) 水生系において上記の有害生物の減少、阻害または除去をもたらす条件下でこの組成物を用いて水生系を処理することとを含む。

【0077】

本明細書で用いる場合、「水面生息有害生物を抑制する」という用語は、水生系における上記の有害生物の増殖の減少、阻害、蓄積の予防、または除去に関する。

【0078】

本明細書で用いる場合、「有害生物」という用語は、藻類(例えば、シアノバクテリア有害藻類ブルーム(CHAB)、および赤潮(渦鞭毛藻類に起因する)もしくは海の泡などの現象を引き起こす生物、細菌、プランクトン、植物プランクトン、水面生息昆虫(すなわち、ブヨ、ユスリカ科(モンユスリカ亜科)またはカ科、例えばネッタイエカもしくはステフェンスハマダラカの成虫、卵または幼生)を含むがこれらに限定されない、水面生息の微生物および生物を包含する。したがって、水面生息昆虫の非限定的な例としては、イエカ属(*Culex* sp.)、ヤブカ属(*Aedes* sp.)、ハマダラカ属(*Anopheles* sp.)およびユスリカ属(*Chironomidae* sp.)が挙げられる。

【0079】

具体的な実施形態において、有害生物はシアノバクテリアおよびシアノバクテリア有害藻類ブルーム(CHAB)である。

【0080】

本明細書で用いる場合、「藻類ブルーム」という用語は、水生系における藻類集団(一般的には微小な)の急速な増加または蓄積に関する。藻類ブルームは、淡水環境ならびに海洋環境で起こることがあり、スカムまたは浮遊藻類マットとも呼ばれる。「有害な藻類

10

20

30

40

50

ブルーム」(HAB)という用語は、毒素の生成、他の生物への物理的なダメージによる、または他の手段による他の生物への悪影響を引き起こす藻類の(またはシアノバクテリアの)ブルームに関する。この用語は、緑藻類、ならびに(これらに限定されないが)ミクロキスティス、アナベナ、プランクトスリア、ネンジュモ、ノドゥラリア、ユレモ属、シリンドロスペルム、プランクトスリックス属、アフアニゾメノン属、リングピアなどのシアノバクテリア、およびアナベナ・フロスアクアとプランクトニカなどの種、ならびに有害な海生藻類ブルーム内で赤潮と関係している有害な海生渦鞭毛藻類を含む、すべての大きな光合成生物または微小な光合成生物を包含する。

【0081】

本発明の組成物、および具体的な実施形態において、次亜塩素酸塩または過酸化水素を含む組成物は、藻類ブルームだけでなく、CHABに関連する共生細菌種にも影響を及ぼす。異なる細菌種がCHABの存在において主要な役割を果たしていることが知られている(EilerおよびBertilsson, 2004; Jonesら, 1998; Siegel, 2005)。それらのうちの一部は、互いに独立して、ヒトおよび動物に対し健康上の悪影響を及ぼす(Bergら, 2008)。

10

【0082】

さらに、本発明の組成物、特に次亜塩素酸塩または過酸化水素を含む組成物は、昆虫にも間接的な悪影響を及ぼす。特に、水面に生息する昆虫は、それらの生活環の少なくとも一部で相互作用する。例えば、ユスリカ科、ハマダラカ属などであるがこれらに限定されない。

20

【0083】

特定の態様において、本発明の方法は、昆虫の非運動性卵を標的とする。250~500 ppmの濃度の次亜塩素酸塩は、卵集団の95%を孵化させなかった。他の卵は早期に孵化し、孵化した大部分の幼生は幼虫に成長しなかった。

【0084】

理論に拘束されることを望むものではないが、環境から卵の塊を除去することによりユスリカ集団に影響を及ぼすだけでなく、水中に拡散する、または摂取され、したがってヒトに伝播するコレラ菌(V. cholerae)の能力を減少させることもできる。

【0085】

本明細書で用いる場合、「水生系」という用語は、湖、河川、泉、池(例えば養魚池)、水路、水槽、水耕システム、保水システムまたは水搬送システム、貯水池、自然の飲料水システム、汽水環境、下水および海洋などの自然系または人工系を包含する。

30

【0086】

本明細書で用いる場合、「水消毒剤」という用語は、水中の微生物を除去する、不活化するまたは死滅させることができる化合物に関する。

【0087】

好適な実施形態において、水消毒剤は活性薬剤放出化合物である。別の実施形態において、水消毒剤は酸化性水消毒剤である。

【0088】

本発明に従う水消毒剤の非限定的な例としては、塩素系化合物(「塩素放出剤」とも呼ばれる)(例えば、次亜塩素酸塩(OC₂T)、次亜塩素酸カルシウム、次亜塩素酸ナトリウム、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム(NaDCC、二水和物、一水化物もしくは無水)、ジクロロジフェニルトリクロロエタン(DDT)、硫酸銅、臭素系化合物(「臭素放出剤」とも呼ばれる)、ヨウ素(I)、ヨードフォル、過マンガン酸カリウム(KMnO₄)、および過酸化水素発生化合物(例えば、過酸化水素、過炭酸ナトリウム、過酸化カルシウム、結晶過酸化水素-PVP複合体、過ホウ酸ナトリウム(四水和物または一水化物)、過酢酸)が挙げられる。好ましくは、水消毒剤は、水と、および水中で有機物質と反応し、それによって、蓄積されないまたは水域環境を変えない非毒性産物を生成する酸化剤である。

40

【0089】

50

例えば、好適な反応性塩素含有酸化剤または臭素含有酸化剤としては、トリクロロイソシアヌル酸、トリブロモイソシアヌル酸、ジブロモイソシアヌル酸およびジクロロイソシアヌル酸などの複素環 N - ブロモイミドおよび N - クロロイミド、ならびにカリウムおよびナトリウムなどの水可溶化陽イオンを有するそれらの塩（例えばジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（Na D C C）二水和物または無水 Na D C C）が挙げられる。さらなる水消毒剤としては、クロラミン T（N - クロロ - 4 - メチルベンゼンスルホンアミドのナトリウム塩）、ジクロラミン T（N , N - ジクロロ - 4 - メチルベンゼンスルホンアミド）、または塩素放出第四級アンモニウム化合物（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムおよび塩化セチルピリジニウム）が挙げられる。1 , 3 - ジクロロ - 5 , 5 - ジメチルヒダントインなどのヒダントイン化合物も適している。次亜塩素酸リチウム、次亜塩素酸ナトリウムもしくは次亜塩素酸カルシウムおよび次亜臭素酸リチウム、次亜臭素酸ナトリウムもしくは次亜臭素酸カルシウム、ならびに塩素化リン酸三ナトリウムなどの乾燥した、粒状の、水溶性無水無機塩も同様に本明細書の用途に適している。

【0090】

例えば、好適な過酸化物系化合物としては、有機ペルオキシ酸が挙げられる。本発明で使用可能なペルオキシ酸は固体であり、好ましくは、実質的に水不溶性化合物である。一実施形態において、本明細書で有用な一般的なモノ過酸としては、ペルオキシ安息香酸および環置換ペルオキシ安息香酸（例えばペルオキシ - ナフトエ酸）または脂肪族モノペルオキシ酸および置換脂肪族モノペルオキシ酸（例えばペルオキシラウリン酸およびペルオキシステアリン酸）などのアルキルペルオキシ酸およびアリアルペルオキシ酸が挙げられる。

【0091】

無機過酸素発生化合物も、本発明の粒子のための核として好適であり得る。これらの物質の例としては、ペルオキソー硫酸塩、硫酸銅、過ホウ酸塩一水和物、過ホウ酸塩四水和物、および過炭酸塩の塩類である。

【0092】

別の実施形態において、水消毒剤はアルデヒド（例えばホルムアルデヒドまたはグルタルアルデヒド）およびその固化化合物である。

【0093】

一実施形態において、本発明の組成物は、硫酸銅および任意の次亜塩素酸塩化合物などの上述の化合物の任意の混合物を含むが、これらに限定されない。好ましくは、そのような混合物は相乗効果をもたらすであろう。

【0094】

一実施形態において、本発明の方法は、本発明の組成物の連続投与を含み、各投与において異なる水消毒剤が用いられる。

【0095】

「水消毒薬」という用語は、漂白剤または漂白化合物も包含する。

【0096】

活性薬剤放出化合物によって放出される活性薬剤の非限定例は、塩素（Cl₂）、二酸化塩素（ClO₂）、オゾン（O₃）、ハロゲン（例えば臭素（Br₂）、塩化臭素（BrCl）、金属（例えば銅（Cu²⁺）、銀（Ag⁺）、ミョウバン、フェノール、アルコール、石鹼および洗剤である。

【0097】

具体的な実施形態において、水消毒剤は、活性化合物として次亜塩素酸または過酸化水素を生成する水殺菌に好適な任意の化合物である。

【0098】

具体的な実施形態において、上記の水消毒薬は、次亜塩素酸カルシウム、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（Na D C C）二水和物、または過炭酸塩である。

【0099】

本明細書で用いる場合、「浮遊剤」という用語は、水面を浮遊できる化合物に関する。

10

20

30

40

50

浮遊剤の非限定的な例としては、セルロース誘導体、植物バイオマス、飽和炭化水素、樹脂状物質、フォーム、ゲル化剤および天然ラテックスまたは合成ラテックスが挙げられる。

【0100】

一実施形態において、浮遊剤は木粉（おがくずとも称される）である。具体的な実施形態において、組成物はおがくずおよび次亜塩素酸カルシウム顆粒を含む。組成物は、例えば、次亜塩素酸カルシウム顆粒（例えば14～50メッシュ）をおがくずに加えることによって調製し、化合物をシリコン接着剤で部分的に塞ぎ、完全に混合し、次いで押しつぶして所望の粒径にする。

【0101】

一実施形態において、浮遊剤はパラフィンである。具体的な実施形態において、組成物は次亜塩素酸カルシウムおよびパラフィンを含む。組成物は、例えば、次亜塩素酸カルシウム粉末をパラフィンと1：2重量比率で、パラフィン融点で混合することによって調製し、次いで押し出すかまたは冷却して、3～4mmのフレークにする。

【0102】

一実施形態において、浮遊剤はロジンである。具体的な実施形態において、組成物は次亜塩素酸カルシウムおよびロジンを含む。組成物は、例えば、次亜塩素酸カルシウム粉末をロジンと1：2重量比率で、ロジン融点で混合することによって調製し、次いで押し出すかまたは冷却して、3～4mmのフレークにする。

【0103】

浮遊剤は、フォーム、例えば好適な耐酸化性の任意のフォーム形成剤、例えばスタイロフォームまたはシリコンフォームであってよい。

【0104】

このように、一実施形態において、浮遊剤は押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームである。具体的な実施形態において、組成物は次亜塩素酸カルシウムおよび押出ポリスチレンフォームまたは発泡ポリスチレンフォームを含む。組成物は、例えば、次亜塩素酸カルシウム顆粒を粘着性ポリマープレフォーム溶液と混合し、次いで硬化することによって調製する。

【0105】

別の実施形態において、浮遊剤はシリコンフォームである。具体的な実施形態において、組成物は次亜塩素酸カルシウムおよびシリコンフォームを含む。組成物は、例えば、次亜塩素酸カルシウム顆粒を粘着性ポリマープレフォーム溶液と混合し、次いで硬化することによって調製する。

【0106】

具体的な実施形態において、浮遊剤は、気体、例えば空気と混合すると、フォームを生成することができるフォーム発生化学物質を含有するフォーム水溶液である。

【0107】

具体的な実施形態において、本発明の組成物は、過酸化塩素を含有する水性フォームを含む。消毒剤を含み、かつフォームを形成することができる水溶液は、例えば発泡剤、すなわち好適な界面活性剤を水に加えることによって調製する。過酸化塩素を次いでこの溶液に加えてもよく、あるいは酸化剤、または酸性形態の陽イオン交換樹脂、または酸をその中で溶解した金属亜塩素酸塩と反応させることによって *in-situ* で過酸化塩素を発生させてもよい。

【0108】

結果として生じるフォーム溶液は、続いて、フォーム発生器内で空気と混合することによって、発泡させることができる。

【0109】

別の実施形態において、浮遊剤はゲル化剤、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロースである。具体的な実施形態において、組成物はジクロロイソシアヌル酸ナトリウム塩二水和物（NaDCC）およびヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む。

10

20

30

40

50

【0110】

特定の実施形態において、組成物は少なくとも1種の結合剤、例えばステアリン酸グリセリルをさらに含んでよい。理論に拘束されることを望むものではないが、ステアリン酸グリセリルの添加はペレットの脆さを減少させ、および浮力を増加させる。

【0111】

特定の実施形態において、組成物は少なくとも1種の膨潤剤、例えば亜塩素酸ナトリウム、クエン酸または炭酸水素ナトリウムをさらに含んでよい。

【0112】

理論に拘束されることを望むものではないが、炭酸水素ナトリウムおよびクエン酸は、水にさらすと反応して二酸化炭素を放出し、それによってさらに化合物の溶解時間が縮小する。

10

【0113】

このように具体的な一実施形態において、組成物はNaDCC、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ステアリン酸グリセリル、および亜塩素酸ナトリウムまたはクエン酸および炭酸水素ナトリウムを含む。

【0114】

別の実施形態において、組成物は、炭化水素中で少なくとも1層の薄膜形成ラテックスで被覆された次亜塩素酸カルシウムを含む。被覆粒子の密度は、次亜塩素酸カルシウムペレットの多孔度およびコーティングの特性によって決まる。

【0115】

20

少なくとも1種の水消毒剤の量は、全組成物の約10重量%、もしくは約20重量%、もしくは約30重量%、もしくは約40重量%、もしくは約50重量%以上であってよい。

【0116】

特定の実施形態において、組成物は、固体粒子を形成するように、混合、圧縮、硬化、またはコーティングによって調製できる。

【0117】

特定の実施形態において、組成物は粒子、顆粒、フレーク、粉末、ペレット、丸剤、または溶液の形態である。

【0118】

30

一実施形態において、上記の処理ステップ(b)は、水面に組成物を分散させることによって行われる。分散は、水生系上に組成物を噴霧することによって、例えばエアロゾルを作成することによって、行うことができる。

【0119】

一実施形態において、この処理は、任意選択で定期的なモニタリングシステム下で、ブルーム季節の初期に開始する。

【0120】

具体的な実施形態において、組成物は、ブルーム発現の前、または発生時に拡散して潜在的毒性ブルームの大発生を防止する。処理頻度は、例えば、有機物負荷、種々の他の植物プランクトン集団と微生物集団および有害な微生物の種類に従って、毎日、毎週または毎月であってよい。

40

【0121】

処理は数日間繰り返し、停止し、もし細胞数が上昇した場合は次いで再開してよい。

【0122】

藻類マットは、水流と風によって水面上で押し流される。本発明の浮遊性製剤はその標的とともに移動し、したがって藻類が蓄積した領域だけが処理され水面全体は処理されない。

【0123】

有効な処理のプロトコールは、水生系における地域の条件によって当業者が決定できる。処理は、単回分散として、または多分散として提供されてよい。処理頻度は、地域の条

50

件によって決定され、例えば、1日3回、もしくは1日2回、もしくは1日1回、または週1回、または2週間に1回、または3週間に1回、または1ヵ月に1回、またはそれより長い間隔もしくはそれよりも短い間隔であってよい。一実施形態において、処理はシアノバクテリアの出現する季節の初期に1回行われ、必要に応じて繰り返される。

【0124】

藻類増殖の減少、抑制または除去は、種々の方法を用いて容易に判定できる。非限定的な例としては、例えば水の色および/または粘度を検査することによる視覚的検出；遺伝子マーカーの分析、例えばリボソームをコードするDNAなどのこれらの生物に由来する特異的なDNAの存在量の分析；クロロフィルa含有量の測定；シアノバクテリア細胞数の顕微測定；水中の溶存酸素濃度の測定；またはpHの上昇がシアノバクテリア細胞数の増加を表す、水中のpHの測定が挙げられる。

10

【0125】

一実施形態において、水生系の水中の酸化剤（例えば次亜塩素酸カルシウムまたはNaDCC）の総濃度は、飲料水中で許容される塩素レベルよりもかなり下回っており、好ましくは、0.003mM~0.03mM、または水面もしくは水面下の0.05~50g/m²、または活性薬剤の約（0.5ppm）と約（50ppm）の間である。

【0126】

例えば（下記の実施例1および2を参照されたい）、発明者らは、10⁹細胞/mLを超えるアオコで汚染されたエルサレム動物園内の小さな池から取得した高汚濁水の水面では、わずか5g/m²の使用が藻類マットの全除去に十分であることを示した。比較のために、表面積1.05・10⁶m²、水量4.12・10⁶m³の浅いGreen湖（Seaattle, USA）を取り上げると、飲料水中の次亜塩素酸塩の許容される範囲での匹敵する非浮遊性製剤の44トンと比較して、わずかに5トンのCa(OCl)₂の浮遊性製剤が使用される。

20

【0127】

さらに、約270リットルの容量を有するエンクロージャーに対して、わずかに1.2gまたは1.6gのNaDCCの使用が、シアノバクテリア汚染の全除去に十分であった（実施例5および6に示す）。

【0128】

本発明の方法に従う分散酸化剤の量は、水中の有機物質の量によって決まる。次亜塩素酸カルシウムまたはNaDCCは、接触すると有機物質と相互作用し、それによってそれらの有効濃度は急速に低下する。すなわち、浮遊性製剤の活性化合物は、水中の有機物負荷と直ちに相互作用し、環境中にいかなる検出可能な残留物を残すこともなく蓄積されることもない。

30

【0129】

本発明は、漂白化合物の徐放性浮遊性製剤も提供する。具体的には、本発明は、浮遊性の藻類増殖阻害剤、浮遊性の水生昆虫殺卵剤、または水上での昆虫産卵を減少させる化合物を含む浮遊性組成物を提供する。

【0130】

理論に拘束されることを望むものではないが、本発明は、シアノバクテリアまたは緑藻類（植物プランクトン）の生態学的地位を妨げる簡単でかつ費用効果がある方法を提供する。この妨害は、同じ環境中の競合微生物に一時的な利点をもたらし、それらの微生物を優勢にし有害な植物プランクトンとうまく競合させる。すなわち、本発明の方法は、抗生物質による一般的な方法のようにシアノバクテリアまたは緑藻類を水域から完全に除去することを目的としておらず、それらの生態学的地位の一時的な変更のための手段を提供することを目的とする。そのような方法は、広い河川水辺でこれまで用いられることはなかった。

40

【0131】

別の実施形態において、特に水生昆虫、卵または幼生の処理のために、酸化剤（例えば、次亜塩素酸カルシウムまたはNaDCC）の総濃度は活性薬剤の約50ppm、もしくは

50

は100ppm、もしくは200ppm、もしくは250ppm、もしくは300ppm、もしくは400ppm、もしくは500ppm、もしくは600ppm、もしくは700ppm、もしくは800ppm、もしくは900ppm、もしくは1000ppm以上である。一実施形態において、酸化剤の総濃度は、活性薬剤の約50ppmと約1000ppmの間である。好ましくは、酸化剤の総濃度は、活性薬剤の約50ppmと約500ppmの間である。

【0132】

水生昆虫に関して、漂白剤はこれまで市販の殺卵剤として提案されなかった。恐らく高レベルの酸化剤は水面で卵の位置に達して維持することができなかったからであろう(Di Domenicoら, 2006; Hatchett, 1946; Jacupsら, 2013)。

10

【0133】

本明細書で用いる場合、「殺卵剤」という用語は、昆虫卵を死滅させるかまたは損傷を与え、それによって昆虫の通常の孵化および幼生の成虫への成長を阻害する薬剤に関する。

【0134】

下記の実施例5に示すように、自然環境において次亜塩素酸の濃度は水域から急速に消える(いかなる種類の有機物質とも反応して)。これらの次亜塩素酸の濃度は、実施例5に示すように、植物プランクトンに極めて効果的に影響を及ぼしたが、それらは蚊の卵、または泳いで離れることによって活性化化合物を逃れた蚊の幼生には効果的に影響を及ぼさなかった。対照的に、実施例7に示す異なるタイプの水生昆虫についての一連の実験は、昆虫の卵を破壊するには比較的高濃度の漂白剤(例えばNaDCC)を必要とすることを示す。これらの昆虫の卵は通常大きい水域で産卵されるので、非浮遊性製剤で水域を処理すると漂白剤負荷が水域全体で希釈されることになり、したがって昆虫の卵に影響を及ぼすための、さもないれば昆虫の幼生の早期孵化を引き起こすための効果的な濃度に達することができない。本発明の浮遊性製剤はしたがって効果的な溶液を提供し、水面での有効な処理に必要とされる高濃度(例えば50~500ppm)の酸化剤の投与が可能になり、それによって所望の殺卵効果を生ずることができる。

20

【0135】

加えて、雌の蚊が卵を産む過程は、何十年も調査されている。理論に拘束されることを望むものではないが、雌の蚊は水面に卵を産む前に有害な環境を検出できる。従って、漂白剤からなる浮遊性の徐放製剤を用いることで、水生系において産卵される卵の量がかなり減少すると予想される。

30

【実施例】

【0136】

実施例1：次亜塩素酸塩に対するシアノバクテリアの感受性の測定

【0137】

4リットルのガラス瓶(直径=65mm、高さ=1210mm)をエルサレムの聖書動物園から最近採取したCHABで満たした(図1A)。大量の藻類集団は、主にミクロキスティス属(Microcystis sp)からなっていた。この汚濁水を次亜塩素酸カルシウムの浮遊性製剤で終夜処理した。浮遊性製剤は、次亜塩素酸カルシウム粒子を浮遊紙上に配置することによって調製した。汚濁水は浮遊紙を徐々に濡らし、次亜塩素酸カルシウム粒子は、有機物質と反応しつつ、かつ水中に濃度勾配を形成しながら徐々にガラス瓶中に溶解した。1平方cm当たり0.5mgの次亜塩素酸カルシウムを含有する浮遊性製剤で終夜処理した後(図1B)、ガラス瓶中の次亜塩素酸塩の平均濃度は、飲料水中の許容されるレベル(0.075mM)をかなり下回る0.03mMであった。水面の藻類は溶解した。ガラス瓶底の真核性藻類は、次亜塩素酸カルシウムの濃度が瓶底では低いため、影響を受けなかった。実験のいずれの段階においても、塩素の臭気は検出できなかった。

40

実施例2：種々の次亜塩素酸カルシウム濃度の試験

50

【0138】

種々の濃度の次亜塩素酸カルシウムを用いて実施例1で上に示したように実験を行った。図2に示すように、異なる濃度の $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ を4リットルガラス瓶に加えた：(A)無処理、(B)0.05mg/1平方cmの $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 、(C)0.1mg/1平方cmの $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 、(D)0.5mg/1平方cmの $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 。実験終了時に、各タンクの水面から2mLを10mLバイアルに移し、数分間放置して沈殿させた。図2は、種々の濃度の効果を示す。試験した各濃度は、藻類集団の量を減少させた。

実施例3：蜜蝋を用いる無水NaDCCの浮遊性組成物の調製

【0139】

無水NaDCC(Sig/m2a#218928)を50に予熱した蜜蝋と1:1重量%で十分に混合した。これにより、水面に有効成分を浮遊させることができる、蜜蝋によって部分的にカプセル化されたNaDCC微細粒子が形成された。

実施例4：NaDCCを含む例示的な浮遊性製剤の調製

【0140】

例示的な製品製剤は以下の成分を含んだ：

有効成分：ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムNaDCC二水和物(Across Chemicalから取得) - 全配合の39.4重量%

ゲル化剤：ヒドロキシプロピルメチルセルロース(DOW Chemicalから取得したMethocel 40-202PCG) - 全配合の42.4重量%

結合剤：ステアリン酸グリセリル(Making Cosmeticsから取得) - 全配合の10.2重量%

膨張剤：NaCl(Sig/m2a Aldrichから取得) - 全配合の8重量%

あるいは、クエン酸(Sig/m2a Aldrichから取得)および炭酸水素ナトリウム(Chem-IMPEx INT'L, Inc.から取得) それぞれ全配合の4重量%

調製方法

【0141】

製品製剤を以下のように調製した：NaCl、クエン酸とジクロロイソシアヌル酸ナトリウム二水和物(NaDCC)を別々の容器中で細かくつぶして、約0.2~0.7mm範囲の粒径にした。あるいは、NaClをステアリン酸グリセリルと炭酸水素ナトリウムに置き換えた。これにより、生成物全体に均一に分布できる粒子を生成する。次に、Methocel 40-202PCG、ステアリン酸グリセリル、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム二水和物、クエン酸、および炭酸水素ナトリウムを大きな容器中で組み合わせ、すべての成分が十分に混合するまで攪拌した。十分に混合したら、混合物を直径12mmのペレットプレスに入れた。ペレットプレスを調整して、厚さ約7mmで質量約500mgのペレットを作製した。次いで、ペレットを115のオーブで3分間インキュベートし、オーブンから取り出して冷却した。

溶解試験

【0142】

水溶性NaDCCから遊離有効塩素を放出するペレットの能力を、比色法を用いて経時的に測定した。作製したキログラムパッチから3つのペレットを無作為に選択した。各ペレットの寸法と質量を記録し、脱イオン水を充填した800mLの高密度ポリエチレン(HDPE)ビーカーにペレットを入れて、アルミニウム箔で覆った。無作為に選択したペレットの寸法と質量を表1に報告する。対照として、NaDCC(0.1975g)を別の800mLプラスチックビーカーに加えた。各溶液の0.8mLアリコートに50mLメスフラスコの中にピペットで入れ、脱イオン水で量を調節した。バイアル中でこれらの希釈溶液の10mLアリコートを0.1%オルトトリジン100μLと混合して、透明な黄色の溶液を形成した。この溶液をキュベットに入れて、Shimadzu製UV160U UV-Vis分光光度計を使用して、436nmで分析した。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 3 】

【表 1】

表 1：無作為に選択したペレットの寸法と量

A	12	7	501.8
B	12	7	505.0
C	12	7	496.7

【 0 1 4 4 】

ペレットと対照試料を検査水に加えてから 15 分後に、初回試料を採取した。さらに、約 2、9、11、13、15、17、24、および 36 時間の時点で追加の試料を採取した。

10

【 0 1 4 5 】

水にさらすと、NaDCC は分解し、藻類増殖の阻害剤として作用する遊離有効塩素を放出する。オルトトリジン は塩素と反応して、変色を引き起こし、NaDCC 溶解をチャートにするための比色分析が可能になる。NaDCC の初期濃度に対し遊離の有効塩素の応答を関連させて検量線を構築することによって、各時点で放出された NaDCC の濃度を算出した。NaDCC の初期濃度の算出を式 1 に示す。15 分の時点で採取した対照の最初のアリコートを用いて、25 ~ 250 ppm の範囲で標準を作成した。各標準溶液の計測器応答を表 2 に示す。

式 1：NaDCC 初期濃度 = NaDCC の初期質量 / 脱イオン水容積

20

$$197.5 \text{ mg} / 0.800 \text{ L} = 246.9 \text{ ppm}$$

【 0 1 4 6 】

【表 2】

表 2：NaDCC の標準曲線濃度

濃度 (ppm)	反応 (AU)
0.000	0.000
24.69	0.169
98.75	0.828
123.4	1.013
148.1	1.356
246.9	2.053

30

【 0 1 4 7 】

式 2 にも示す、検量線から濃度と応答との間で見いだされた関係を用いて、ペレットによって経時的に放出された NaDCC の濃度を算出した。無作為に選択した各ペレット（「A」、「B」および「C」とラベルをつける）の応答および対照標準を表 3 に報告する。

式 3 を用いて、応答を表 3 の濃度に変換した。

式 2：応答 (AU) = 0.0085 × 濃度 (ppm)

式 3：濃度 (ppm) = 応答 (AU) / 0.0085

【 0 1 4 8 】

40

【表 3】

表 3：無作為に選択したペレットおよび対照標準の経時的反応

期間（時間）	対照	A	B	C
0.25	2.053	0.000	0.000	0.000
2.17	1.941	0.034	0.091	0.036
9.17	2.022	0.794	0.973	0.848
11.00	1.831	1.168	1.385	1.219
13.42	2.030	1.662	1.595	1.590
15.42	1.988	1.721	1.712	1.677
17.67	1.968	1.649	1.628	1.688
24.00	1.850	1.753	1.889	1.809
36.00	2.015	1.880	1.956	1.889

10

【0149】

【表 4】

表 4：無作為に選択したペレットおよび対照標準の経時的に放出された Na D C C の濃度（p p m）

期間(時間)	対照	A	B	C
0.25	241.5	0.000	0.000	0.000
2.17	228.4	4.000	10.71	4.235
9.17	237.9	93.41	114.5	99.76
11.00	215.4	137.4	162.9	143.4
13.42	238.8	185.5	187.6	187.1
15.42	233.9	202.5	201.4	197.3
17.67	231.5	194.0	191.5	198.6
24.00	217.6	206.2	222.2	212.8
36.00	237.1	221.2	230.1	222.2

20

【0150】

上に示すように、例示された製剤は浮遊し、経時的に徐々に Na D C C を放出する。

【0151】

30

Na D C C の放出は、15 時間まで比較的直線的に生じた。15 時間の後、放出速度は劇的に落ちた。15 時間までに、約 85 % の Na D C C が放出され、24 時間までに約 90 % が放出された。

実施例 5：シアノバクテリア細胞密度を減少させるための浮遊性製剤の使用 [I]

【0152】

クロロフィル濃度が約 150 $\mu\text{g/L}$ およびミクロシスチンレベルが 0.2 $\mu\text{g/L}$ で、有毒なシアノバクテリア・オシラトリア属 (*Oscillatoria* sp.) (優勢種として) が発生している曝気養魚池 (S10 池、Auburn University, Auburn, AL) に、エンクロージャー [半径 20 cm の長さ 2.0 m のポリエチレン製の透明チューブ、表面積 (0.125 平方 m)] を設置した。3 通りの独立したアッセイを設定し、有効成分として約 200 mg のジクロロイソシアヌル酸ナトリウム (Na D C C) 二水和物顆粒を含有するカプセル (ペレット) で処理した。実施例 4 に示すようにカプセルを調製した。エンクロージャーは池の底に向かって開口され、毎朝、1 日 1 回 2、3 時間作動する強力なエアレーターによる水の動きを受けた。4 通りの異なる処理を施した：8 カプセル (計 1.6 g の Na D C C 二水和物) を (1) 1 日目のみに 1 投与量、(2) 毎朝、1 投与量を 5 日間、(3) 1 投与量を 1 日 2 回、5 日間、および (4) 無処理。朝の処理から 3 時間後に、すべてのエンクロージャーから試料を採取した。クロロフィル a の濃度を水面で、ならびに水深 50 cm で測定した。この測定値は、植物プランクトン細胞密度の直接指標として認められる。また、溶存酸素 (DO) のレベル、pH (すべての水深で)、水面での総浮遊物質 (TSS)、導電率、および減光を測定し

40

50

た。以下の意外な発見が観察された：

- 1．最初の処理から3時間後、水面上でクロロフィルa濃度の50～70%の低下が観察され、これは反復処理での5日間にわたる処理で99.96%の低下に達した(図3A)。予想外に、この反復処理は水柱にも影響を及ぼし、0日目および無処理の対照と比較して、水深50cmで50%～99%のクロロフィルaの低下が観察された(図3B)。
- 2．シアノバクテリア数の減少は光合成収率の低下ももたらした：系からのCO₂のより低い消費が炭酸を減少させて重炭酸塩濃度の上昇をもたらした、したがってpHレベルの低下をもたらす。pHは、8.0から4.0に低下した(図3C)。
- 3．光合成収率の喪失のため、溶存酸素(DO)測定値も減少すると予想された：水中のO₂濃度はとても速く低下し、すなわち1日後O₂濃度は約50%減少し、5日間の測定の間持続した(図3D)。
- 4．植物プランクトンの著しい減少にもかかわらず、水柱に沿って測定した減光、ならびにTSSまたは導電率は意外にも変わらなかった。

【0153】

理論に拘束されることを望むものではないが、pHおよびDOの測定値は、まさにシアノバクテリア細胞が池の水から消え始める前に、処理の初期にシアノバクテリアの生理機能が変わったことを明確に示す。この仮説は、減光係数、導電率および総浮遊物(TSS)の測定値が変化していないことによって裏づけられる。さらに、これらの3つのパラメータの測定値は、全アッセイを通して一定に維持され、かつ3つの実験ブロックすべてにわたり一貫しており、シアノバクテリアが減少した時点で微生物の他の集団が生態的地位を取って変わったことを示唆している。あるいは、微生物の他の集団は、栄養になるシアノバクテリア細胞含有物を捕食したのかもしれない。

【0154】

その主張に対する別の裏づけは、塩素濃度が水柱でもまたは水面でも全アッセイにわたりほとんど検出できず、処理から3時間後に0.1～0.3ppmを超えなかったことである。容量が約270リットルであるこのエンクロージャーにおいて、1.6gNaDCC二水和物は、理論的には5.9ppmまたは～3.4ppmの有効塩素を表しているはずであるが、1日1回または1日2回のいずれの処理においても何も検出できなかった。言い換えると、細胞密度に対する処理の効果ならびに追加のパラメータは、この化合物の直接的な有毒作用によってのみでは説明できない。

【0155】

さらに、前述のように、このエンクロージャーは強力なエアレーターから約20m離して設置し、エアレーターは毎日池の水を混合し、および上から水を噴霧することによってエンクロージャーの開口端を通して底から水を押し出すことによって池の水をエンクロージャー中の水とおそらく混合した。独立した3つの試験ブロックのすべてにおける、すべてのパラメータの相関(水面および水深50cmでのクロロフィルaの濃度、pHおよびDO(図3A～D))は、微量の下位濃度の次亜塩素酸を含む浮遊性製剤による処理が有害なシアノバクテリア集団の完全な崩壊を引き起こすことができ、および他の競合する日和見微生物のために道を開く可能性があることを明確に示す。

実施例6：シアノバクテリア細胞密度を減少させるための浮遊性製剤の使用 [II]

【0156】

別の実験において、約10⁶フィラメント/mLの初期細胞密度でシアノバクテリア・オシラトリア属(*Oscillatoria* sp.)が大量に発生している浅い(水深30～100cm)曝気養魚池(G16池、*Auburn University, Auburn, AL, USA*)に、エンクロージャー(長さ40cmの透明なポリエチレンチューブで構成される)を設置した。エンクロージャーは、水面と池の底の両方向かって開口させて、水中に配置した。以下の処理を施した：(1)無処理の対照、(2)3カプセルのNaDCC浮遊性製剤での処理、(3)6カプセルのNaDCC浮遊性製剤での処理、および(4)9カプセルのNaDCC浮遊性製剤での処理(例示的なエンクロージャーを示す図4を参照されたい)。各カプセルは、実施例4に記述するように、浮遊性製剤

中に活性化合物としてNaDCC二水和物を含有した。処理は、1日目の19:00に、次いで2日目の午前8:00に施し、続いて3回目では最後の処理は2日目の12:00に施した。

【0157】

6つのカプセル（前述の通り、計1.2gのNaDCC二水和物）は、エンクロージャー中の全スカムの除去に成功した（図5および6）。このことはまたエンクロージャーの水面で満たしたバイアルでも実証され、処理にわたる相対的な混濁度が示された（図7）。水面中の細胞数は、処理過程の間に劇的に低下した（1桁）。水面上のpHはpH9.5からpH8に低下し、光合成活性の減少を示唆した。トレース装置（Pocket Tracerコード1740、LaMotte, USA）を用いて総塩素測定を実施して、
10
処理終了時に、3カプセル処理では0.3ppmの総塩素濃度、6カプセル処理では0.43ppmの総塩素濃度、および9カプセル処理では1.22ppmの総塩素濃度を明らかにした（総塩素濃度は、容積43リットルに対する、それぞれ8、16および24ppmの論理的予測濃度をはるかに下回った）。

実施例7：水上に浮かぶ種々の危険な昆虫に対する無水ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（NaDCC）の効果を明確にする

【0158】

3%濃度の家庭用漂白剤はステフェンスハマダラカ（*Anopheles stephensi*）の卵を害さなかったが、中等度の塩素濃度は、多くの種類の昆虫の幼生を非処理対照よりも早く孵化させた。早期孵化は、それらの発育を変え、およびそれらが成虫に変態するのを妨げた。
20

【0159】

下記に示す様々な種類の水生昆虫についての一連の実験は、昆虫の卵を破壊するには比較的高濃度の漂白剤を必要とすることを示す。

a. ネットアイエカ（*C. quinquefasciatus*）

【0160】

蚊の卵は、Fort Collins, Coloradoの疾患管理センターから取得した。卵を計数し、0、50、500、5000および50,000ppmでNaDCC無水溶液8mLを含有する滴板に移し、各処理濃度と対照（0ppm）を同じ滴板内で3回反復し、これを30に設定したインキュベーターに移して、12時間の明暗変更を25時間行った。直ちに、卵を池水に移すと、対照群内の多くの幼生が孵化を開始し、泳ぎ始めた。バイオアッセイを開始してから25時間後、幼生を生存、孵化後死、または未孵化死として計数した。幼生が卵の外被から完全に出た場合、孵化したとしてのみ計数した。データはSAS（バージョン9.2、Cary North Carolina）でPROBIT Procedureを用いるプロビット分析によって分析し、LC₉₅と自然応答率を得た。ネットアイエカのLC₉₅は93.8ppmであった。卵殻は50,000ppm処理で溶解して識別できず、5000ppm処理では大部分が溶解し、幼生は依然として形を維持し、孵化することがないことを示唆していた。

b. ステフェンスハマダラカ（*Anopheles stephensi*）

【0161】

ステフェンスハマダラカの卵は、New York University School of MedicineのInsectary Core Facility and Parasitete Cultureの収集から取得した。60の卵を計数して、0、0.58、5.8、58、580および5800ppmでNaDCC無水溶液8mLを含有する滴板に移した。各処理および対照を同じ滴板内で3回反復し、これを30に設定したインキュベーターに移して、12時間の明暗変更を72時間行った。データはSAS（バージョン9.2、Cary North Carolina）でPROBIT Procedureを用いるプロビット分析によって分析した。バイオアッセイを開始してから72時間後、幼生を生存、孵化後死、または未孵化死として計数した。個体が卵の外被から完全に出た場合、孵化したとしてのみ計数した。ステフェンスハマダラカのLC
40
50

9.5 は、 270 ppm であった。

c. ネットアイシマカ (*Aedes aegypti*)

【0162】

ネットアイシマカの卵は、Fort Collins, Coloradoの疾患管理センターから取得した。卵を計数し、滴板処理ウェルまたは対照ウェルに移し、次いでこれをインキュベーター内に設置した。バイオアッセイを開始してから72時間後、幼生を生存、孵化後死、または未孵化死として計数した。幼生が卵の外被から完全に出た場合、孵化したとしてのみ計数した。データはSAS (バージョン9.2, Cary North Carolina)でPROBIT Procedureを用いるプロビット分析によって分析し、 $LC_{9.5}$ と自然応答率を得た。ネットアイシマカの $LC_{9.5}$ は 470 ppm であった。卵殻は $50,000 \text{ ppm}$ 処理では溶解して識別できず、 5000 ppm 処理では大部分が溶解し、幼生は依然として形を維持し、孵化することがないことを示唆していた。

10

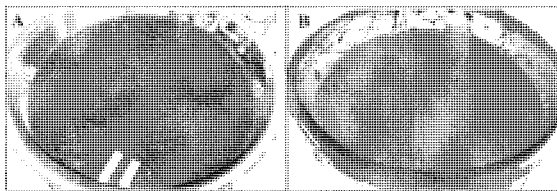
d. ユスリカ (*Chironomidae*)

【0163】

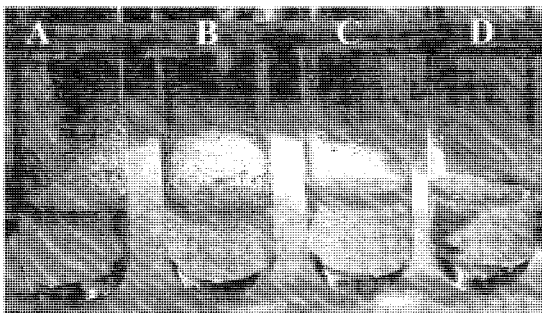
非ヌカカ卵 (ユスリカ科: モンユスリカ亜科) をTown Park, Auburn, AL.の池で採取した。卵を計数し、0、50、500、5000および $50,000 \text{ ppm}$ でNaDCC無水溶液8 mLを含有する滴板に移した。各処理および対照を同じ滴板内で3回反復し、これを30に設定したインキュベーターに移して、12時間の明暗変更を1週間行った。データはSAS (バージョン9.2, Cary North Carolina)でPROBIT Procedureを用いるプロビット分析によって分析した。幼生が卵の外被から完全に出た場合、孵化したとしてのみ計数した。モンユスリカ亜科の $LC_{9.5}$ は 205.7 ppm であり、推定される自然死亡率は2.8%であった。

20

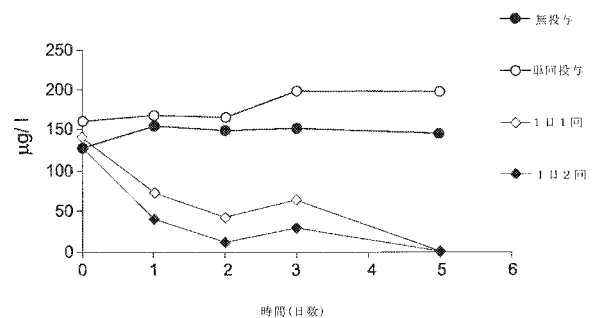
【図1】



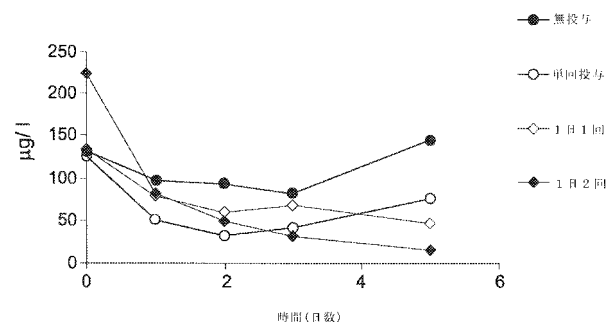
【図2】



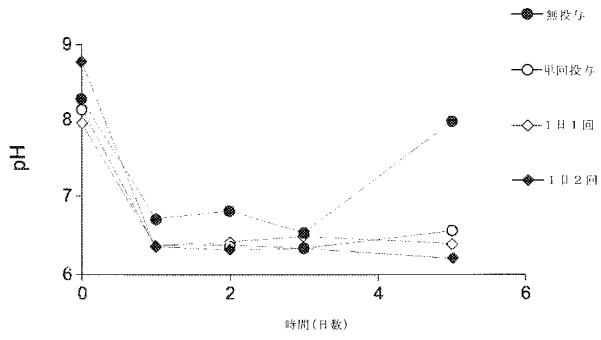
【図3A】



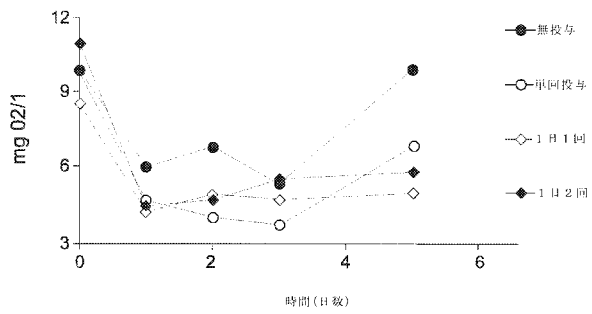
【図3B】



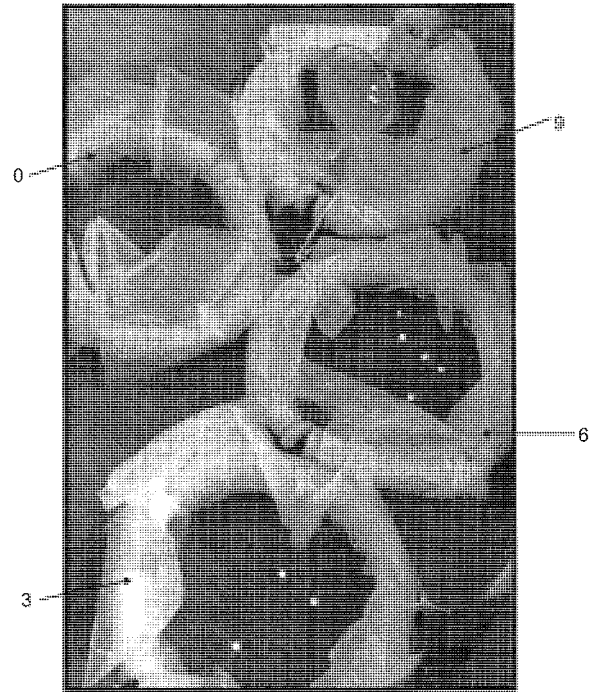
【図 3 C】



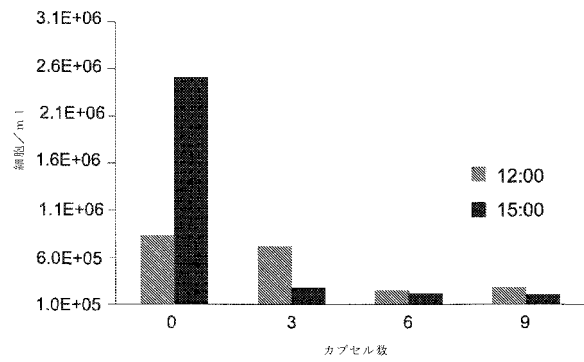
【図 3 D】



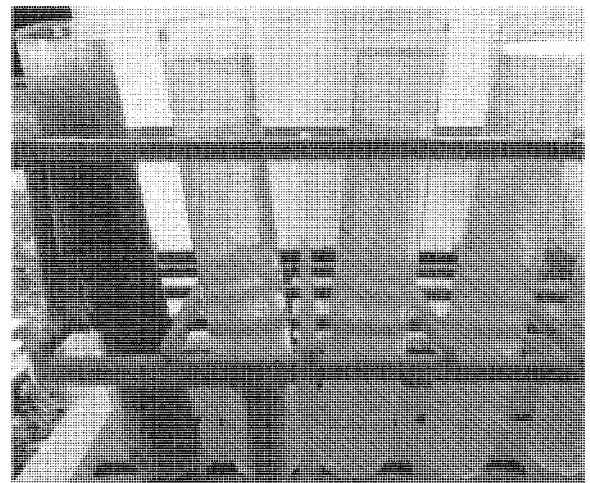
【図 4】



【図 5】



【図 7】



【図 6】

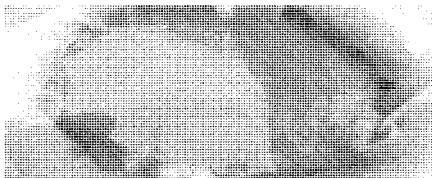


図 6 A

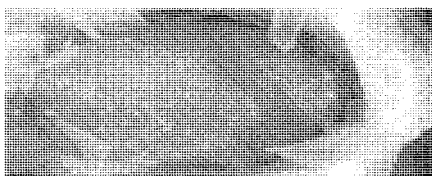


図 6 B

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IL2014/050602

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A01N59/00 C02F1/72 A01N25/08 A01N25/10 A01N25/16
A01N25/34 A01P7/00 A01P1/00 A01P13/00

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01N C02F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96/03046 A1 (SOLVAY INTEROX LTD [GB]; DAVIES SANDRA JOYCE [GB]; FRENCH MADELINE SUS) 8 February 1996 (1996-02-08) page 1, lines 35-38 page 2, lines 24-32, 33-36 page 4, lines 16, 20-22 page 5, lines 1-2, 15-19 page 7, lines 35-38 page 8, lines 8-18, 22-26 page 9; example 1 -----	1-19, 23-46, 50-52
X	JP 2012 116788 A (HOKKO CHEM IND CO) 21 June 2012 (2012-06-21) paragraphs [0007], [0008], [0011], [0038] - [0054]; claims 1-16 ----- -/-	28, 38-40, 50-52

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 September 2014

Date of mailing of the international search report

24/09/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sawicki, Marcin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IL2014/050602

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 692 335 A (IWANSKI DONALD P [US]) 8 September 1987 (1987-09-08) column 1, lines 55-68 column 3, lines 51-53 -----	1-52
X	US 2011/079559 A1 (MILLER JOHN C [US] ET AL) 7 April 2011 (2011-04-07) paragraphs [0080] - [0082]; claim 5 -----	1-4,13, 14,16, 23, 28-31, 40,41, 43,50
Y	US 2004/185079 A1 (ZOMER ELIEZER [US]) 23 September 2004 (2004-09-23) paragraphs [0012], [0016] -----	20-22, 47-49
Y	Gisela Lamche ET AL: "Recommended chlorination procedures for receptacles containing mosquito eggs for quarantine purposes.", Bulletin of the Mosquito Control Association of Australia, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 1-3, XP055139479, Retrieved from the Internet: URL: http://digitallibrary.health.nt.gov.au/prodjspui/bitstream/10137/263/1/Recommended chlorination procedures for receptacles containing mosquito eggs for quarantine purposes.pdf [retrieved on 2014-09-10] paragraphs [0001], [0004]; table 1 -----	20-22, 47-49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IL2014/050602

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9603046	A1	08-02-1996	AU 2985495 A WO 9603046 A1	22-02-1996 08-02-1996
JP 2012116788	A	21-06-2012	JP 5563964 B2 JP 2012116788 A	30-07-2014 21-06-2012
US 4692335	A	08-09-1987	NONE	
US 2011079559	A1	07-04-2011	US 2011079559 A1 US 2012318746 A1	07-04-2011 20-12-2012
US 2004185079	A1	23-09-2004	CA 2445786 A1 US 2004185079 A1 WO 02087342 A1	07-11-2002 23-09-2004 07-11-2002

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I			テーマコード (参考)		
C 0 2 F 1/50 (2006.01)	C 0 2 F	1/50		5 1 0 D		
C 0 2 F 1/76 (2006.01)	C 0 2 F	1/50		5 1 0 E		
A 0 1 K 63/04 (2006.01)	C 0 2 F	1/50		5 2 0 B		
A 0 1 M 1/00 (2006.01)	C 0 2 F	1/50		5 2 0 F		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 K		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 L		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 Q		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 U		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 P		
	C 0 2 F	1/50		5 4 0 D		
	C 0 2 F	1/50		5 4 0 E		
	C 0 2 F	1/50		5 4 0 B		
	C 0 2 F	1/76		A		
	C 0 2 F	1/50		5 1 0 A		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 E		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 F		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 R		
	C 0 2 F	1/50		5 3 2 C		
	C 0 2 F	1/50		5 3 2 D		
	C 0 2 F	1/50		5 3 2 H		
	C 0 2 F	1/50		5 3 2 J		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 M		
	C 0 2 F	1/50		5 3 1 N		
	A 0 1 K	63/04		F		
	A 0 1 M	1/00		Z		

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ブラウン , セルゲイ

イスラエル国 , 9 9 8 7 5 0 0 ズール ハダッサ , ピー . オー . ボックス 2 0 5 , 3 6 4 ハ
シャケッド ストリート

(72)発明者 ハレル , モシェ

アメリカ合衆国 , テキサス州 7 7 0 9 6 , ヒューストン , サロン ドクター 4 4 2 7

Fターム(参考) 2B104 EF11

2B121 AA12 AA13 AA19 AA20 CC37 EA21

4D050 AA02 AA06 AB06 BB02 BB03 BB04 BB06 BB09 BB20

4H011 AA02 BA04 BB09 BC01 BC22 DA02 DF02